

蚊的寄生线虫旌德罗索虫的生活史 及其与宿主关系的研究

杨新史 房天职 陈登宏 蔡国英 李明生

(中国医学科学院寄生虫病研究所)

近30年来,由于广泛使用合成的有机杀虫剂,普遍引起蚊媒产生抗性,因此亟需寻找新的和更好的防制方法。媒介的生物防制,近年日益受到重视,因为它可能是媒介综合防制策略的一个重要部分,也是防止媒介对常用杀虫剂产生抗性提供新的途径(Pant, 1981)。目前,应用于媒介防制的生物剂,线虫是其中的一个重要类群。近十多年来的研究证明,蚊的寄生索虫对防制媒介有很大潜力(Platzer, 1981)。当索虫完成其发育离开宿主进入环境时,宿主因受损害很快死亡,因而这类索虫每一种皆可能是有潜效的生物防制剂(Poinar, 1979)。为了发展我国蚊虫媒介特别是中华按蚊的生物防制,近年来我们对蚊类寄生索虫进行了探索。通过1979—1980年的普查,在安徽省旌德地区找到一种寄生于中华按蚊幼虫的索虫,经鉴定隶于索科罗索虫属一新种,命名为旌德罗索虫 *Romanomermis jingdeensis* (Nematoda, Mermithidae)。本种与食蚊罗索虫 *R. culicivorax* 和艾氏罗索虫 *R. iyengari* 的形态相似,主要区别在于本种的阴道管在中央部位之前弯曲且弯度较大和具较短交合刺(体长与交合刺长的比率为37.8,与食蚊罗索虫的(25)和艾氏罗索虫的(26.2)有显著性差异($P < 0.01$)(图1—2)。有关旌德罗索虫新种的详细描述,另有专题报导。本文主要记述它的生活史及其与蚊虫宿主关系的研究结果。

生 活 史

旌德罗索虫的生活史是在室温25—27°C下进行观察的。以中华按蚊幼虫充供索虫的宿主。用经过高温消毒的粗沙,平铺在小玻璃培养皿的底面,然后加入适量的脱氯自来水,以保持潮湿为度,作为线虫的培养基。每个培养皿内放入雄、雌成虫各1条,共65对。以这些配对的标本为材料,按一定的操作程序,综合观察旌德罗索虫生活史各期的主要特征。

卵期 (图3—5) 雄、雌两性交配后, 雌虫产卵于湿沙内。卵的形状大多呈椭圆形, 大小平均为 77.1×71.2 微米。卵壳透明, 表面有粘性。刚产卵未分裂, 随后经过分裂期, 末后形成线虫雏形。完成胚胎发育期为10(8—12)天。在有水的条件下, 埋在沙里成熟的卵, 于几分钟内即可孵出线虫。在包含多对雄、雌成虫的培养基内, 雌虫产下许多卵粒, 让其保存一定时间后, 若对其间隔灌水, 每次都有线虫孵出, 但其孵出数依次减少。第1次蜕皮发生在卵内。线虫从卵逸出时, 其脱下的皮留在卵壳内。

寄生前期 (图6—7) 从卵孵出的线虫, 身体细长, 白色, 头钝尾尖。它们借助尾部的摆动, 在水面作快速弓曲状游泳, 寻找蚊幼虫宿主。当遇到宿主时, 便以其头部紧靠宿主的躯体, 然后伸出有收缩性尖锐的口针, 奋力穿破宿主的表皮而进入体腔。据对130条寄生前期幼虫侵袭二龄中华按蚊幼虫的观察, 其中有一半钻入宿主的体内, 其他一半则被宿主挣脱甩掉(50条)或被吞食(15条)。它们攻击宿主的身体部位, 并无严格选择性。在成功穿入宿主体内的65条线虫中, 以穿入宿主的腹部者为最多, 占58.4%, 穿入宿主的胸部者次之, 占38.5%, 而穿入宿主的头部者最少, 仅占3.1%。以上差异的原因, 可能与宿主身体的不同部位的面积大小和体表厚度有关。线虫完成一次表皮穿入平均为8(2—14)分钟。寄生前期幼虫的存活时间, 十分短暂, 很少超过72小时。它们对宿主的感染能力, 随着生活时间增长而减弱。据观察, 虫龄为24小时的36条寄生前期幼虫, 全部均能进入宿主体内, 达100%, 而虫龄为48小时的112条寄生前期幼虫, 其中能进入宿主体内者仅占9.8%, 不能进入宿主时, 均自行死亡。

寄生期 (图8—9) 当线虫进入宿主的体腔以后, 虫体渐变粗大, 到了3—4天, 便进行第2次蜕皮, 随后虫体迅速伸长增大, 加速吸收养料。到了发育阶段, 显现寄生后期模样, 整个虫体盘曲于宿主的胸腹腔中, 并可见到发达的滋养体内包含着无数细小的球体(贮藏小泡)。这些是贮藏食物, 为线虫在离开宿主后唯一的营养来源。雌虫的寄生期为8—10天, 雄虫为6—10天。当线虫钻破宿主的体壁外逸时, 伴有液体外流, 致使宿主严重损害萎缩而死。据检查, 在线虫钻出孔的周围, 带有明显黑色素者占73%。

寄生后期 (图10—11) 寄生后期幼虫从宿主逸出的时间, 大多数雄虫先于雌虫。它们进入环境后营自由生活。根据雌虫在身体中央部位所出现的生殖原基, 可与雄虫加以区别。鉴别两性的另一特征是, 雌虫的滋养体末端至尾端的距离, 明显比雄虫的短。两性完成发育时间无甚差异, 在雄虫为7.1(5—10)天, 雌虫为7.4(5—12)天。寄生后期幼虫到了发育成熟阶段, 第3、4次蜕皮同时发生, 然后进入成虫期。将其脱下的皮置于低倍显微镜下, 可辨别出两层薄皮套叠在一起。当线虫准备蜕皮时, 首先在虫体前端靠近神经环部位的表皮发生环裂, 由于虫体的蠕动, 先脱去前端的表皮, 再脱去后部的表皮。在前端表皮离体后, 它带有一条极其细长的丝状物, 白色透明, 不久在口端中断。此丝状物可能是食道脱下的皮层。

成虫期 (图12) 雌体比雄体长而粗大。在多数线虫个体群集的情况下, 它们常蜷卷成团。当开始交配时, 雄虫以其尾端绕抱雌体的中央部位, 并不断作探索性移动, 直至触及阴门后, 便伸出交合刺插入阴道。交配时间或长或短, 有的可持续1天以上。两性均可重复交配。雌虫在交配后常即开始产卵。据对8条雌虫的观察, 产卵期为13—31

天, 产卵数为725—3791粒。雄虫的平均寿命比雌虫的长, 前者为57.2 (30—182) 天, 后者为36.9 (22—59天)。雄虫生活时间之所以较长, 可能与它们产生精子消耗贮存食物较少有关。当线虫耗尽滋养体内的贮存食物后, 虫体呈透明状态, 旋即死去。

总的表明, 在室温25—27°C, 旌德罗索虫完成一个新的世代为27 (21—36) 天。

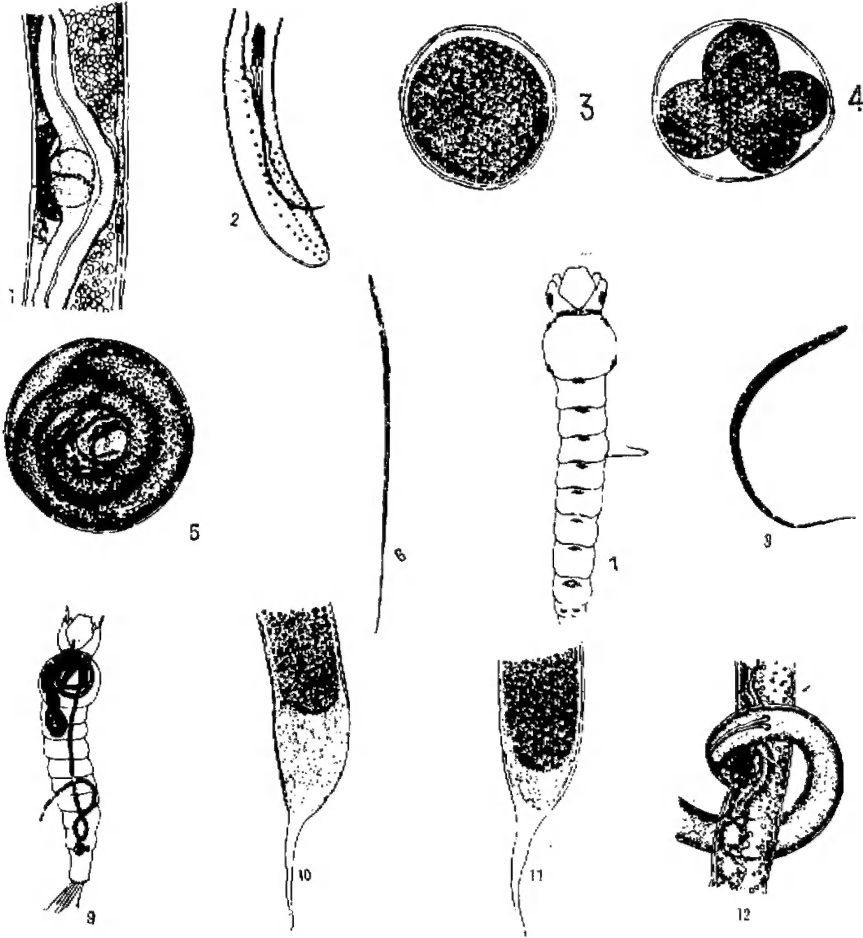


图 1—12 旌德罗索虫 *Romanomermis jingdeensis*

- 图1. 雌成虫阴道部位侧面观 (400×)。 图2. 雄成虫尾部侧面观, 示成对的交合刺 (100×)。
 图3. 卵, 未分裂 (400×)。 图4. 卵, 已分裂 (400×) 图5. 卵, 卵内形成线虫雏形 (750×)。
 图6. 寄生前期幼虫 (200×)。 图7. 寄生前期幼虫正在穿入宿主的腹部 (40)。 图8. 线虫进入宿主体腔后52小时的形态 (100×)。
 图9. 在宿主体腔内已发育成熟的线虫开始离开宿主 (20×)。
 图10. 寄生后期雄虫的尾端 (200×)。 图11. 寄生后期雌虫的尾端。 (200×)。 图12. 雄、雌虫正在交配 (100×)。

对蚊类的影响

不同龄中华按蚊幼虫对索虫的敏感性 实验感染用Ⅰ、Ⅱ龄晚期和Ⅲ、Ⅳ龄早期中华按蚊幼虫。将各龄蚊幼虫分别与旌德罗索虫的寄生前期幼虫按 1:5 感染比率进行接触,在24小时后,取样剖检,结果表明以Ⅰ龄蚊幼虫最为敏感,Ⅱ龄次之,Ⅲ、Ⅳ龄较少敏感;每宿主被感染的平均线虫数,随着蚊幼虫的龄期增大而相应递减(表1)。

表1 各龄中华按蚊幼虫与旌德罗索虫按 1:5 比率接触的结果

宿主龄期	实验宿主数	检查宿主数	受感染宿主数	感染率(%)	每宿主平均线虫数
Ⅰ	4×50=200	79	61	77.2	3.0
Ⅱ	8×50=400	93	40	43.0	2.4
Ⅲ	8×50=400	76	14	18.4	1.7
Ⅳ	8×50=400	109	13	11.9	1.5

二龄中按蚊幼虫接触不同比率索虫的实验 以二龄中华按蚊幼虫与旌德罗索虫的寄生前期幼虫按 6 个不同感染比率分组进行接触,经过24小时后,逐组取样剖检的结果,蚊幼虫的寄生水平一般随着线虫数增大而上升,每宿主被感染的平均线虫数也相应增多(表2)。

表2 二龄中华按蚊幼虫与旌德罗索虫按不同比率接触的结果

	宿主: 寄生前期幼虫					
	1:1	1:2	1:3	1:4	1:5	1:10
检查宿主数	169	56	66	71	76	82
受感染宿主数	26	13	35	31	55	76
感染率(%)	16.4	23.2	53.0	43.7	72.4	92.7
每宿主平均线虫数	1.2	1.4	1.8	1.7	2.6	5.5

不同蚊种对索虫的敏感性比较* 选择 3 属 11 种蚊虫作实验感染。实验均用二龄蚊幼虫,一般重复 2—4 次。以 1:5 和 1:10 蚊幼虫对寄生前期幼虫的比率,结果测得按蚊属最为敏感,伊蚊属和库蚊属均不敏感。按蚊属 5 种蚊的感染率如下依次降低,中华按蚊>雷氏按蚊嗜人亚种>微小按蚊、斯氏按蚊>大劣按蚊。用同上两种比率,白纹伊蚊的感染率为 0.5 和 2.0%,在 1:10,埃及伊蚊和致乏库蚊分别为 1.4 和 1.3%,而东乡伊蚊和淡色库蚊均未获感染,直至把比率升高到 1:50,它们才各出现 0.4% 寄生感染;三带喙库蚊即使在 1:50 高比率,仍未获感染,只当让其接触无数寄生前期幼虫(大大超过 1:50)时,方获得 1.2% 寄生感染。(表 3)

* 承中国科学院上海昆虫研究所和广西医学院供给实验用的部分蚊标本,谨此致谢。

表 3 不同蚊种对旋德罗索虫的实验感染

宿主种类	宿主: 寄生前期幼虫					
	1:5		1:10		1:50	
	检查宿主数	感染率(%)	检查宿主数	感染率(%)	检查宿主数	感染率(%)
中 华 按 蚊	146	68.5	165	93.3	—	—
雷氏按蚊嗜人亚种	155	47.7	185	66.5	—	—
大 劣 按 蚊	111	9.0	190	9.5	37	94.6
微 小 按 蚊	177	37.9	178	57.3	—	—
斯 氏 按 蚊	149	31.5	227	57.3	—	—
埃 及 伊 蚊	—	—	142	1.4	141	9.9
东 乡 伊 蚊	294	0	392	0	276	0.4
白 纹 伊 蚊	203	0.5	349	2.0	251	20.7
淡 色 库 蚊	160	0	273	0	234	0.4
敏 乏 库 蚊	—	—	150	1.3	150	6.0
三 带 喙 库 蚊	—	—	—	—	174	0

讨 论

索科索虫常见寄生于昆虫幼虫的体腔内。Nickle (1972) 对已知索虫的生活史归纳为 4 种类型。根据旋德罗索虫生活史各期的特征, 表明与尼氏罗索虫 *Romanomeris nielsenii* 属于同一类型。在环境温度 25—27°C, 旋德罗索虫完成一个新世代平均为 27 天。根据在该种索虫原产地的调查, 于 1979 年 8—9 月和 1980 年 4、6—9 月的不同季节, 都能从中华按蚊幼虫体内找到索虫的寄生, 同时参照旋德罗索虫完成一个世代生活周期的实验温度条件, 因此估计它在皖南旌德地区一年可连续繁殖几代。这显然不同于尼氏罗索虫一年一代, 因为它必需同生长在高山区的一种伊蚊宿主每年生产一代相适 (Tsai & Grundmann, 1969)。旋德罗索虫的繁衍情况也不同于 *R. communis*, 后者在加拿大曼尼托巴地区可能每年只产一代 (Thornton & Brust, 1979)。正因为旋德罗索虫在蚊虫生境中一年能连续繁殖几代, 从理论上推断, 它对媒介自然种群的抑制作用, 必将比那些每年仅产一代者为大。就现在所知道的, 食蚊罗索虫对蚊虫是一种很有希望的生物防制剂 (Platzer, 1980)。有些现场试验表明, 将食蚊罗索虫的寄生前期幼虫或寄生后期幼虫释放蚊虫生境中, 它们可以定居和再循环 (Petersen et al., 1975; Marshall et al., 1982; Westerdahl et al., 1982)。旋德罗索虫是食蚊罗索虫的近似种, 在同前处理下, 也有可能同样延续繁殖, 继续发生其效用, 但对此尚待进一步研究予以证实。

根据对按蚊、伊蚊和库蚊 3 属 11 种蚊虫的实验感染, 按蚊属种类对旋德罗索虫最为敏感, 表明该种索虫是按蚊的专性寄生虫。它的近似种食蚊罗索虫, 虽然已知它能在 7 属 58 种蚊虫的体内发育, 却常不能在少数库蚊完成它的发育, 总是被这些宿主消灭掉 (Poinar, 1979)。据 Mitchell 等 (1974) 的报告, 食蚊罗索虫进入中华按蚊幼虫的体

腔后因被黑化而不能发育。与此相反, 旌德罗索虫进入中华按蚊幼虫的体腔后却能发育至成熟。这反映了两种索虫与宿主中华按蚊有迥然不同的生理关系。已知在易感的宿主种类中, 有些索虫能抑制黑化程序以阻碍宿主的免疫机制 (Gordon, 1981)。旌德罗索虫对宿主中华按蚊可能是起到这种作用, 因而能够完成它的发育, 而食蚊罗索虫则否, 以致被黑化不能发育。从上述情形来看, 旌德罗索虫对中华按蚊似乎是一种很有希望有潜力的生物防制剂。这将在今后的实用研究中给以证实评价。

总 结

在环境温度25—27°C, 旌德罗索虫完成一个新的世代平均为27天。实验感染表明, 按蚊属种类对旌德罗索虫最为敏感, 因此它对按蚊媒介似乎是一种有潜力的生物防制剂。有关它的真正实用价值, 尚待在今后现场试验中作出评价。

参 考 文 献

- Gordon, R. 1981 Mermithid nematodes, physiological relationships with their insect hosts. *J. Nematol.* 13, 266-274.
- Marshall, L. et al. 1982 Establishment and long-term survival of *Romanomermis culicivorax* in mosquito habitats, Tokelau Islands. *Mosq. News* 42, 86-92.
- Nickle, W. R. 1972 A contribution to our knowledge of the Mermithidae (Nematoda). *J. Nematol.* 4: 113-146.
- Pant, C. P. et al. 1981 Progress in malaria vector control. *Bull. Wild. Hlth. Org.* 59:325-333.
- Petersen, J. J. and O. R. Willis 1975 Establishment and recycling of a mermithid nematode for control of mosquito larvae. *Mosq. News* 35:526-532.
- Platzer, E. G. 1980 Nematodes as biological control agents. *California Agriculture* 34:27.
- Platzer, E. G. 1981 Biological control of mosquitoes with mermithids. *J. Nematol.* 13:257-262.
- Poinar, G. O., Jr. 1979 Nematodes for biological control of insects. Boca Raton, Florida, CRC Press, INC.
- Thornton, D. P. and A. W. Brust 1979 Embryonic development of *Romanomermis communensis* (Nematoda, Mermithidae) at different temperatures. *Can. J. Zool.* 57:1710-1712.
- Tsai, Y. -H. and A. W. Grundmann 1969 *Reesimermis nielsenii* gen. et sp. n. (Nematoda, Mermithidae) parasitizing mosquitoes in Wyoming. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 36, 61-67.
- Westerdahl, B. B. et al. 1982 Successful establishment and recycling of *Romanomermis culicivorax* (Mermithidae, Nematoda) in a California rice field following postparasite application. *J. Med. Entomol.* 19, 34-41.

STUDIES ON THE LIFE CYCLE OF *ROMANOMERMIS*
JINGDEENSIS (NEMATODA, MERMITHIDAE)
AND HOST-PARASITE RELATIONSHIP*

Yang Xinshi Fang Tianzhi Chen Denghong
Cai Guoying Li Mingsheng

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences)

A new species of mermithid nematodes, parasitizing the larvae of *Anopheles sinensis* Wiedemann collected from Jingde County of Anhui Province in 1979-1980, was identified as *Romanomermis jingdeensis*. This new species is a small whitish nematode with an elongated body. It is readily distinguished from the other species of the genus with the exception of *R. culicivora* and *R. iyengari* by its vagina with a distinct flexure. In comparison with *R. culicivora* and *R. iyengari*, the new species has a vagina with a more bent canal and relatively shorter spicules (the ratios of the body length to spicule length (37.8) differs significantly ($P < 0.01$) from those in *R. culicivora* (25) and in *R. iyengari* (26.2)). The detailed description will be published in another paper. This paper mainly reports the life cycle of the new species and its effectiveness against mosquitoes.

Life cycle. The eggs possess thin, sticky transparent shells and are of different shapes. A motile larva Ia is formed within 10 days after the eggs are laid, and the first moult takes place inside the egg. The preparasitic juvenile which enters the larva by cuticular penetration has a fine tail and a blunt head, this stage is short lived. The second moult occurs 3-4 days after the nematode entering the host, then the worm grows rapidly. The postparasite always kills the mosquito larva when it emerges and becomes free-living. The third and fourth moults occur simultaneously about 7 days after it has left its host. After moulting, adult male and female usually copulate immediately, oviposition period ranges from 13-31 days and number of eggs laid varies from 725 to 3791. The males survive longer than the females. A new generation of *R. jingdeensis* is

* Partial financial support was received from UNDP/World Bank/WHO TDR

produced within 27 (21-36) days at 25-27°C.

Effectiveness against mosquito. Experiments were carried out to compare the susceptibility of different instar *Anopheles sinensis* larvae to the preparasitic juveniles of *R. jingdeensis*. The results show that under the same condition the parasitism of the first instars are more heavier than that of the second instars, the third and fourth instars are less susceptible. On the other hand, the infection rate of the second instar *A. sinensis* larvae is directly related to the number of parasites per host. On evaluating the susceptibility to the mermithid, 11 mosquito species were used as target organisms. Among the species tested, anophelines were found to be more susceptible than culicines at 1:5 and 1:10 ratios of the second instar larva of mosquitoes to preparasitic juveniles. The infection rates of anopheline species decreased in the following order, *A. sinensis* > *A. lesteri anthropophagus* > *A. minimus*, *A. stephensi* > *A. dirus*. *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus* and *Culex P. quinquefasciatus* were very lowly susceptible at 1:10. when the infection ratio raised to 1:50, *C. tritaeniorhynchus* was not infected at all, whereas the parasitisms of both *Ae. togoi* and *C. P. pallens* was 0.4%. The nematode *R. jingdeensis* appears to be a promising biological control agent against anopheline mosquitoes.